

SHONOS NYÁRFAJOK GENETIKAI VÁLTOZATOSSÁGA A DUNÁNTÚLON

Benke Attila, Cseke Klára, Borovics Attila

Erdészeti Tudományos Intézet
benke@ertisarvar.hu

Bevezetés

A természeti környezet tudatos emberi kiaknázása el tt a hazánkban shonos nyárfajok (fekete nyár, fehér nyár, rezg nyár) területfoglalása többszöröse volt a napjainkban tapasztalhatónak [jelenleg hazánk erd területének 4,1%-a hazai nyáras (NÉBIH, 2013)]. A földm velés elterjedésének tájalakító hatása, a folyószabályozások, valamint a nemesnyárok múlt század közepét l számított térhódítása azonban jelent s területvesztést okozott mind a három fafaj esetében. A helyzetet nehezítette a fajok nem pontos, esetenként méltánytalanul hátrányos erd gazdálkodási megítélése (a rezg nyár gyomfafajként való kezelése), a nem megfelelő erdészeti módszerek alkalmazása az erd felújítások során (többszörös sarjasztatás) (Koltay és Kopecky, 1954). A fennmaradt természetes populációk genetikai változatosságának megismerése az erdészeti nemesítés egyik alapvet feladata, amely a kés bbiek során az erdészeti gyakorlat számára is fontos új információkkal szolgálhat. Az OTKA által támogatott kutatásban a *Leuce* szekcióba tartozó fehér nyár (*Populus alba* L.) és rezg nyár (*Populus tremula* L.) dunántúli jelent sebb természetes eredet populációinak genetikai változatosságát vizsgáltuk, kiterve a két faj természetes hibridje, a szürke nyár (*Populus* × *canescens* SM.) el fordulások vizsgálatára is.

Anyag és módszer

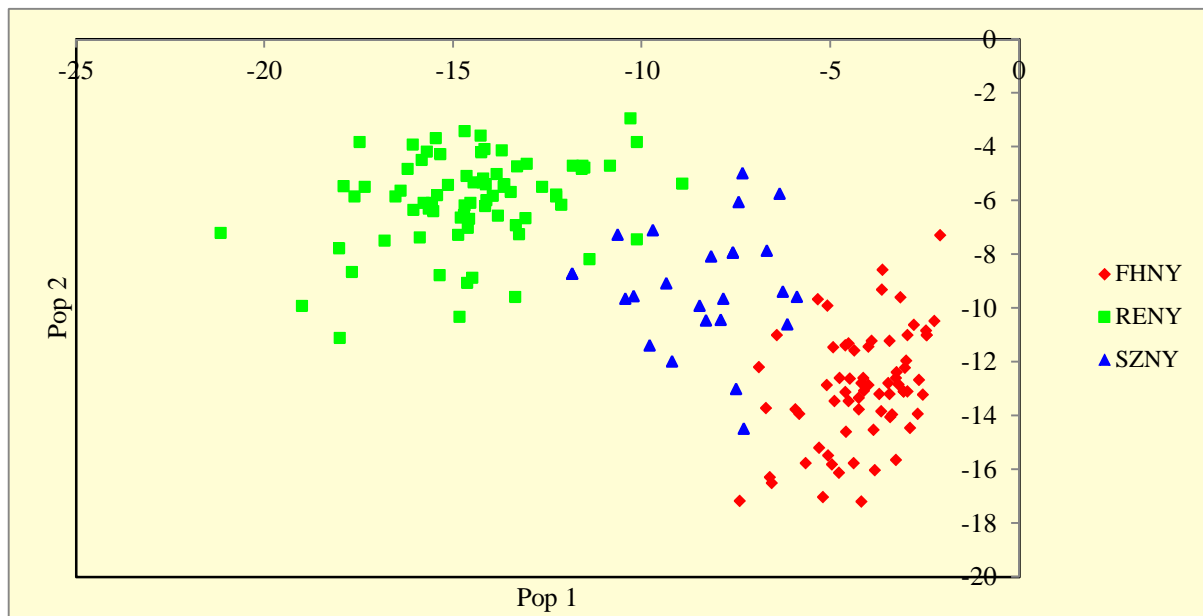
7 közép- és dél-dunántúli tájegység (Dráva-mente, Villányi-hegység, Mohácsi-sík, Mecsek, Zselic, Bels - és Küls -Somogy) állományainak összesen 169 egyedét vizsgáltuk úgynevezett SSR módszerrel. A mikroszatellitek vagy SSR markerek (*Simple Sequence Repeat*) olyan nagy polimorfizmust mutató DNS szakaszok, melyekben 2-5 bázispárnyi egységek ismétl ndnek nagy kópiaszámban, tandem módon. A célszekvenciák felszaporítását primerpárokkal végezzük, amelyek az adott mikroszatellitet határoló, igen konzervatív szekvenciára specifikusak. A primerpár egyik tagja (*forward*) fluoreszcens jelölést kap az 5' végre, így a felszaporított fragmentum lézeres detektálással kimutathatóvá válik. A mikroszatellit hossz polimorfizmus, felbontó képessége folytán alkalmas populációgenetikai, géntérképezési és fajtaazonosítási vizsgálatokhoz egyaránt (Hajósné Novák, 1999).

A vizsgálatok összesen 16 SSR markereket teszteltük. A tesztelések után 6 markert emeltünk ki a mintasor teljes elemzésére (WPMS sorozat: 14, 16, 18, 20; PMGC és GCPM sorozat: 2060, 2163).

A PCR reakció sikerességét agaróz gélelektroforézissel ellen rítettük, a fragmentumok pontos méretének meghatározásához ABI PRISM310 genetikai analizátor készüléket használtunk (Applied Biosystems). A genetikai vizsgálatok során nyert nyers genotípus adatok statisztikai értékelését GenAEx 6.5 (Peakall és Smouse 2012), a genetikai távolság mátrixon alapuló dendrogram szerkesztését Statistica 6.0 (Statsoft. Inc., 2001) szoftverrel végeztük.

Eredmények

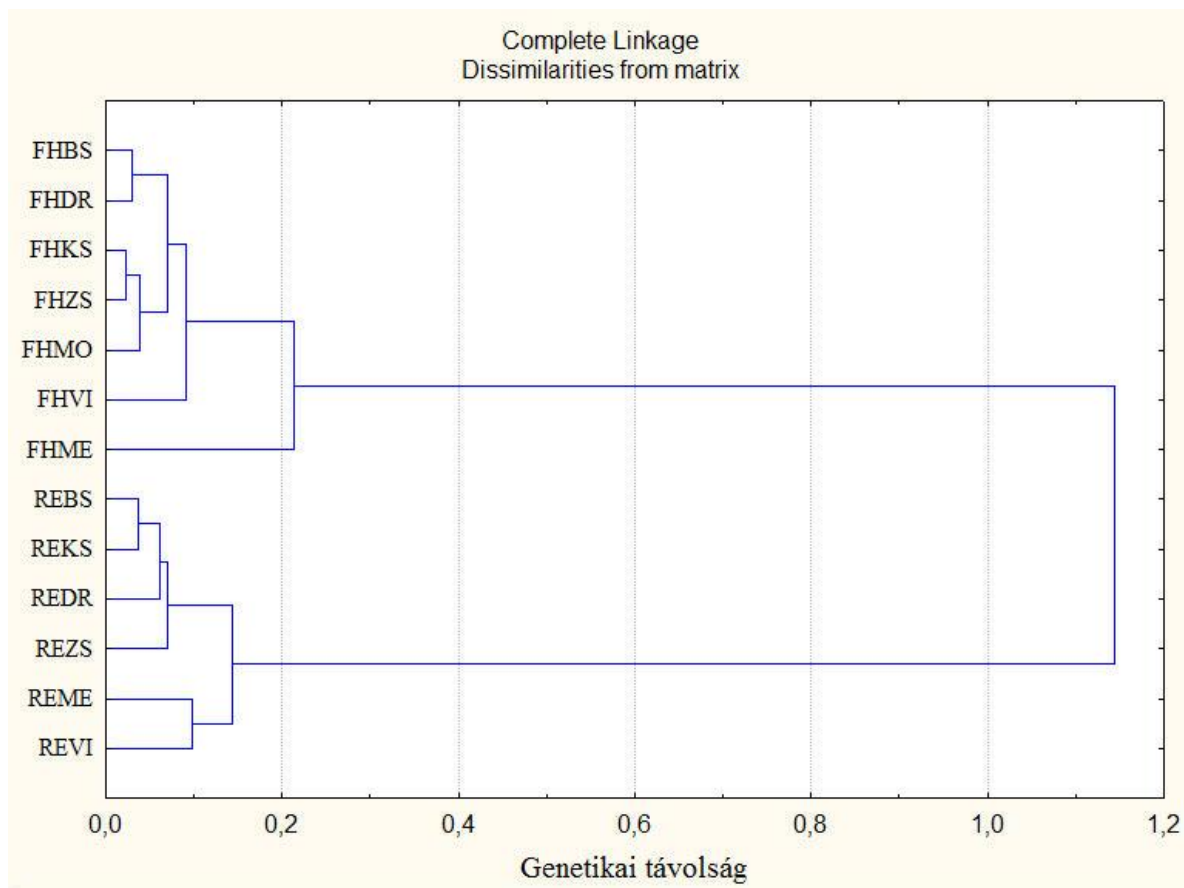
Amint az ismert, fehér és a rezg nyár egymással természetes úton keresztezni képes. A keresztezés során létrejött hibrid egyedek egymással és a szülő fajok egyedeivel párosodva egy nagyon változatos, morfológiailag a két alapfaj között elhelyezkedő, de virágzásbiológiai okokból kifolyólag elsősorban a fehér nyár irányába integrálódó alakkört hoznak létre (Bartha, 2004). Az egy szülő fajjal történt többszöri visszakereszteszések sok esetben nagyon megnehezítik, esetenként szinte lehetetlenné teszik a pontos terepi fajbesorolást. Az introgresszált egyedek beazonosítása, illetve ezáltal a populációgenetikai vizsgálatok eredményeinek megfelelő értelmezése céljából a fajbesorolást a 6 markerrel végzett SSR vizsgálatok eredményei alapján, a GenAlEx 6.5 populációgenetikai szoftver *Population assignment* módszerével végeztük. A besorolás során a módszer egy adott egyed minden egyes vizsgált lokuszának megfigyelt genotípus frekvencia értékei alapján negatív logaritmus valószínűségi értéket számol minden egyes populáció tekintetében (véletlenszerű párosítás feltételezve a populációkon belül). A vizsgált egyedet a program azon populációba sorolja, amelynél a legmagasabb valószínűségi értéket számolta. A 169 egyed tekintetében elvégzett besorolás eredményét az 1. ábra mutatja be.



1. ábra: Allélfrekvencián alapuló egyed besorolás grafikus ábrázolása (GenAlEx 6.5)

Az ábrán jól látható, hogy a hibrid szürke nyár egyedek a két alapfaj egyedei alkotta pontfelhő között helyezkednek el a genetikai adatok alapján.

A hibrid egyedek körének pontosítását követően elvégeztük a vizsgált populációk genetikai távolságának meghatározását. Ennek érdekében a populációgenetikai program segítségével kiszámítottuk az egyes populációk Nei-féle genetikai távolságát. Az elkészített genetikai távolság mátrix alapján a populációk kapcsolatát Statistica 6.0 program segítségével dendrogramon ábráztuk (2. ábra). A klaszterek kialakítása a Statistica 6.0 szoftver *Complete linkage* módszerével történt, amely az egymástól legtávolabbi genotípusok összevetésén alapszik (Podani 1997).



2. ábra: SSR vizsgálatok alapján Complete linkage eljárással szerkesztett dendrogram (Statistica 6.0); (jelmagyarázat: Fh ó fehér nyár, Re ó rezg nyár; Bs ó Bels -Somogy, Dr ó Dráva-mente, Ks ó Küls -Somogy, Me ó Mecsek, Mo ó Mohácsi-sík, Vi ó Villányi-hegység, Zs - Zselic)

A dendrogram alapján általánosságban megállapítható, hogy a földrajzilag egymáshoz közel fekvő populációk genetikai távolsága kisebb, mint a földrajzilag egymástól távol esőké. Ezt támasztja alá a fehér nyár esetében a belső-somogyi és dráva-menti, valamint a külső-somogyi és zselici populációk, továbbá a rezgő nyár esetében a belső- és külső-somogyi populációk kis genetikai távolsága. A somogyi rezgő nyár populációk genetikai távolsága a dráva-menti és zselici populációkhoz viszonyítva sem jelentős. Ugyanakkor mindkét faj esetében megállapítható, hogy a Villányi-hegységben és a Mecsekben mintázott egyedek genetikailag távolabb esnek a szomszédos populációktól (ezt ugyanakkor a kis egyedszám is magyarázhatja, hiszen a tájegységek populációit a fehér nyár esetében csupán két-két egyed, a rezgő nyár esetében sorrendben 7 és 9 egyed képviseli).

A somogyi populációk SSR vizsgálatok során nyert diverzitás értékeit külön ábrázoljuk (1. táblázat). A táblázatban az allélszámot, valamint az allélgyakoriságokat figyelembe véve Shannon információs index értékek alapján rangsoroltuk az egyes populációkat. A táblázat alapján jól látható, hogy Shannon-index értékek alapján a rezgő nyár populációk mutatják a legmagasabb genetikai diverzitást. Bár az átlagos lokuszonkénti allélszámokban és egyedi allélok számában a belső-somogyi rezgő nyár populáció kiemelkedik a többi populáció közül, a várt heterozigótia esetében a külső-somogyi rezgő nyár populáció mutat magasabb értéket. A Shannon-index alapján értékelt diverzitás tekintetében a szürke nyár populációk a két alfaj populációi között helyezkednek el, Külső-Somogy, Belső-Somogy sorrendben. A vizsgált fehér nyár populációk mérsékelt diverzitást mutattak a másik két faj populációihoz képest.

Populáció	Mintaszám	Átlagos lokuszonkénti allélszám	Effektív allélszám	Shannon információs index	Egyedi allélek száma	Heterozigócia
REBS	26	7,167	3,249	1,295	2,167	0,596
REKS	21	5,833	3,231	1,271	1,167	0,620
SZKS	9	3,833	2,685	0,989	0,500	0,511
SZBS	6	3,333	2,700	0,976	0,000	0,539
FHKS	21	5,167	2,715	0,943	0,333	0,443
FHBS	18	4,333	2,099	0,807	0,167	0,394

1. táblázat: Bels - és küls -somogyi populációk diverzitás értékei SSR vizsgálat alapján

A genetikai variancia megoszlásának meghatározásához molekuláris genetikai varianciaanalízist (AMOVA-teszt) végeztünk a GenAlEx 6.5 programmal, a somogyi populációkban mintázott egyedek bevonásával. A varianciaanalízis eredményeképpen megállapítható, hogy a teljes genetikai varianciához legnagyobb mértékben az egyedszint variancia járul hozzá (74%). Azt követi a populációk közötti (22%), majd az egyedek közötti variancia (4%).

Összefoglalás

A Közép- és Dél-Dunántúl 7 tájegységében gy jtött összesen 169 shonos *Leuce* nyár egyeden 6 markerrel végzett mikroszatellit (SSR) analízis alkalmasnak bizonyult az alapfajok (fehér nyár, rezg nyár), valamint a hibridegyedek (szürke nyár) laboratóriumi elkülönítésére. A szürke nyár a két alapfaj közötti, átmeneti genetikai mintázatot mutatott. A Nei-féle genetikai távolság alapján szerkesztett dendrogram a földrajzilag egymáshoz közel fekv populációk tekintetében jelzett kisebb genetikai távolságot, ami a populációk közötti er teljes génáramlásra hívja fel a figyelmet. A populációgenetikai szoftverrel számított diverzitás értékek a somogyi rezg nyár populáció kiemelked változatosságát mutatták. Végezetül a somogyi populációkban mért molekuláris variancia forrását, vizsgálataink szerint, dönt mértékben az egyedszint variancia határozza meg (74%).

Köszönetnyilvánítás

A mintagy jtés alkalmával segít ink, vezet ink voltak a Duna-Dráva Nemzeti Park, a Mecseki Erdészeti ZRt., a SEFAG Erdészeti és Faipari ZRt. munkatársai, akiknek ezúton is szeretnénk kifejezni hálás köszönetünket fáradozásaikért.

Kutatásunkat az OTKA 06321-es nyilvántartási számú pályázata támogatta.

Felhasznált irodalom

- Bartha D. (2004): A magyarországi nyár (*Populus L.*) taxonok határozókulcsa és rövid jellemzése. *Flora Pannonica* 2(2): 93.
- Hajósné Novák M. (1999): Genetikai variabilitás a növénynemesítésben. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 44-48.
- Koltay Gy., Kopecky F. (1954): Honos nyáraink leromlott öröklöttségének megjavítása. *Erdészeti Kutatások*, 2: 65-86.
- NÉBIH Erdészeti Igazgatóság (2013): Erdővagyon, erdőgazdálkodás Magyarországon. http://www.nebih.gov.hu/szakteruletek/szakteruletek/erdeszeti_igazgatosag/kozerdeku_adatok/adatok
- Peakall, R., Smouse, P.E. (2012): GENALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Podani J. (1997): Bevezetés a többváltozós biológiai adatfeltárás rejtelmeibe. Scientia Kiadó. Budapest, p. 145.
- StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>